

Afdeling Algemene Chemie 1986-01-20

Rapport 86.12 Pr.nr. 505.2090

Onderwerp: Bepaling van het gehalte
aan ruw eiwit in diervoeders.

Verzendlijst: directeur, sektorhoofd, directie VKA, afdeling Al-
gemene Chemie, projectbeheer, circulatie

Project: Normalisatie/harmonisatie van onderzoeksmethoden voor diervoeders.

Onderwerp: Bepaling van het gehalte aan ruw eiwit in diervoeders.

Doel:

Nagaan of ter vaststelling van het gehalte aan ruw eiwit in diervoeders de officiële EEG-methode (Publikatieblad L 123, blz. 9-11) vervangen kan worden door de semi-automatische "Tecator"-methode.

Samenvatting:

Voor de bepaling van het gehalte aan ruw eiwit in diervoeders is een officiële EEG-methode beschreven. Door het toepassen van een semi-automatische methode zouden meer analyses verricht kunnen worden.

Om na te gaan of de EEG-methode vervangen kan worden door deze semi-automatische methode, is bij 25 handelsmonsters diervoeder een vergelijkend onderzoek uitgevoerd.

Conclusie:

1. De resultaten verkregen met behulp van de Tecator-methode zijn gemiddeld slechts 0,1% hoger dan die verkregen met de EEG-methode. Dit verschil is echter wel significant.
2. Voor de controle van het gehalte aan ruw eiwit in diervoeders kan de Tecator-methode als screeningsmethode worden toegepast.
3. De bij dit onderzoek vastgestelde herhaalbaarheid van de EEG-methode is 0,45% en van de Tecator-methode 0,35%. Deze waarden zijn aanzienlijk hoger dan de door de EEG vastgestelde herhaalbaarheid.


Verantwoordelijk: drs N.G. van der Veen



Samenstellers: J.J.M. Driessen, H.H.M. van de Worp

Medewerkers: H. Bannink, mw M.F. Bovens-v.d. Burgt, R.G. Coors

Statistisch medewerker: mw G.A. Werdmuller

Projectleider: H.H.M. van de Worp 

1. Inleiding.

De officiële methode voor de bepaling van ruw eiwit in diervoeders is beschreven in het Publicatieblad van de Europese Gemeenschappen Nr. L 123 (Bijlage 1). Deze zal verder aangeduid worden als EEG-methode.

Sinds enige tijd bestaat de mogelijkheid om het gehalte aan ruw eiwit in diervoeders te bepalen met behulp van een analyse-apparaat, ontwikkeld door de firma Tecator (bijlage 2). Deze wordt verder aangeduid als Tecator-methode.

Beide methoden zijn gebaseerd op de destructie en destillatie volgens Kjeldahl.

Met behulp van de op het RIKILT beschikbare Tecator-apparatuur kunnen door eenzelfde analist per tijdseenheid ca. 3 maal zoveel analyses verricht worden als met de EEG-methode.

Om na te gaan of de EEG-methode vervangen kan worden door de Tecator-methode zijn een aantal monsters diervoeder met beide methoden onderzocht.

In dit rapport worden de resultaten van dit onderzoek en de statistische verwerking daarvan weergegeven.

2. Monsteronderzoek.

Ter vergelijking van de resultaten, verkregen met behulp van de EEG-methode en de Tecator-methode, zijn 25 monsters diervoeder in duplo onderzocht. Deze monsters zijn door de Algemene Inspectiedienst (AID), in het kader van een wettelijke controle, aangeboden.

Het enige wezenlijke verschil tussen beide methoden is het gebruik van verschillende zuren voor het opvangen van het in ammoniak omgezette eiwit. Bij de Tecator-methode wordt boorzuur gebruikt. Bij de EEG-methode wordt zwavelzuur voorgeschreven.

3. Resultaten en discussie.

De resultaten van het onderzoek naar het gehalte aan ruw eiwit in de 25 onderzochte monsters diervoeder staan vermeld in tabel 1. De 2e kolom geeft de resultaten in duplo van de EEG-methode en de 3e kolom die van de Tecator-methode. Deze resultaten zijn verkregen over een periode van ca. 4 maanden.

In de 6e kolom is het verschil tussen de gemiddelden van bovengenoemde resultaten aangegeven. Uit de verschillen tussen de Tecator-methode en de EEG-methode volgt dat het gemiddelde verschil 0,114% bedraagt. Dit geringe verschil is, zoals volgt uit de verdelingsvrije tekentoets, wel significant. De standaardafwijking van het gemiddelde verschil bedraagt 0,031.

Bij 4 van de 25 onderzochte monsters is het resultaat van de Tecator-methode lager dan dat van de EEG-methode.

Het 95% betrouwbaarheidsinterval van het gemiddelde verschil wordt begrensd door +0,05% en +0,18%.

Bij het onderzoek naar het gehalte aan ruw eiwit in diervoeders kan dus de Tecator-methode worden toegepast. Indien blijkt dat de resultaten voor de AID aanleiding kunnen zijn tot gerechtelijke vervolging van de diervoederbereider, dan dient het betreffende monster met behulp van de EEG-methode te worden heronderzocht. In het EEG-voorschrift is voorgeschreven dat het verschil tussen

de resultaten van een bepaling in tweevoud in hetzelfde monster (de herhaalbaarheid) niet meer mag bedragen dan 0,2% absoluut bij gehalten van minder dan 20% ruw eiwit, 1,0% relatief bij gehalten van 20 tot 40% en 0,4% absoluut bij gehalten van meer dan 40%. Voor 4 van de 25 met de EEG-methode onderzochte monsters wordt niet aan deze herhaalbaarheidseis voldaan.

Als de resultaten van de Tecator-methode getoetst worden aan de EEG-herhaalbaarheidseis, blijken 5 monsters niet aan deze eis te voldoen.

Uit alle duploverschillen van dit onderzoek (zie tabel 1) kan berekend worden dat de herhaalbaarheid van de EEG-methode 0,45% bedraagt en die van de Tecator-methode 0,35%. Deze is berekend uit $r = 2\sqrt{2} \cdot sd$ waarin sd de standaarddeviatie van de duploverschillen is.

De bij dit onderzoek vastgestelde herhaalbaarheid is dus voor beide methoden aanzienlijk hoger dan de huidige EEG-herhaalbaarheid.

4. Conclusie.

1. De resultaten verkregen met behulp van de Tecator-methode zijn gemiddeld slechts 0,1% hoger dan die verkregen met de EEG-methode. Dit verschil is echter wel significant.
2. Voor de controle van het gehalte aan ruw eiwit in diervoeders kan de Tecator-methode als screeningsmethode worden toegepast.
3. De bij dit onderzoek vastgestelde herhaalbaarheid van de EEG-methode is 0,45% en van de Tecator-methode 0,35%. Deze waarden zijn aanzienlijk hoger dan de door de EEG vastgestelde herhaalbaarheid.

Tabel 1

Vergelijkend onderzoek naar het gehalte aan ruw eiwit in diervoeders met behulp van de officiële EEG-methode en een semi-automatische Tecator-methode.

RIKILT nr.	Analyseresultaten (%)		Duploverschillen d (%)		Verschil x van het gemiddelde van beide meth. (%)
	EEG-meth.	Tecator-meth.	EEG- meth.	Tecator- meth.	
23761	15,47-15,51	15,50-15,54	0,04	0,04	+ 0,03
24314	17,46-18,11	17,90-18,02	0,65	0,12	+ 0,18
26263	8,56- 8,71	8,44- 8,48	0,15	0,04	- 0,18
26451	15,28-15,45	15,52-15,54	0,17	0,02	+ 0,16
27068	15,50-15,54	15,38-15,60	0,04	0,22	- 0,03
27070	15,65-16,12	15,75-16,19	0,47	0,44	+ 0,09
27557	17,53-17,58	17,78-17,90	0,05	0,12	+ 0,28
27734	14,95-15,11	15,08-15,18	0,16	0,10	+ 0,10
27735	14,94-15,11	14,85-15,01	0,17	0,16	- 0,09
27737	14,96-15,06	15,07-15,15	0,10	0,08	+ 0,10
28116	15,12-15,26	15,21-15,50	0,14	0,29	+ 0,17
28118	20,88-20,92	20,99-21,05	0,04	0,06	+ 0,12
29562	16,07-16,16	15,96-15,98	0,09	0,02	- 0,15
29564	16,00-16,04	16,03-16,06	0,04	0,03	+ 0,02
29930	14,99-15,38	15,33-15,58	0,39	0,25	+ 0,27
29931	19,68-20,03	19,95-20,02	0,35	0,07	+ 0,27
30041	19,43-19,57	19,50-19,68	0,14	0,18	+ 0,09
30042	16,35-16,39	16,38-16,41	0,04	0,03	+ 0,03
30512	13,80-13,96	14,10-14,27	0,16	0,17	+ 0,30
10133	8,78- 8,79	8,96- 9,11	0,01	0,15	+ 0,25
10134	20,58-20,67	21,11-21,19	0,09	0,08	+ 0,53
10135	46,81-46,99	46,91-46,95	0,18	0,04	+ 0,03
10136	42,82-42,89	42,93-42,95	0,07	0,02	+ 0,08
10138	31,08-31,39	31,02-31,48	0,31	0,46	+ 0,01
10901	16,64-16,70	16,84-16,86	0,06	0,02	+ 0,18
		n =	25	25	n = 25
		\bar{d} =	0,164	0,128	\bar{x} = 0,114
		sd =	0,159	0,125	$s\bar{x}$ = 0,031
		r =	0,45	0,35	

2. BEPALING VAN RUW EIWIT

1. Doel en toepasbaarheid

Het voorschrift beschrijft de methode om op conventionele wijze het gehalte aan ruw eiwit in veevoeders vast te stellen door bepaling van het gehalte aan stikstof volgens Kjeldahl.

2. Beginsel

Het monster wordt langs natte weg gedestrueerd. De zure oplossing wordt met natronloog alkalisch gemaakt. De vrijgekomen ammoniak wordt door destilleren uitgedreven en opgevangen in een bekende hoeveelheid zwavelzuur, waarvan de overmaat met natronloog wordt getitreerd.

3. Reagentia

- 3.1 Kaliumsulfaat p.a.
- 3.2 Katalysator: koper (II) oxide p.a., CuO , of gekristalliseerd kopersulfaat p.a., $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, of kwik, of kwik (II) oxide p.a., HgO .
- 3.3 Zink p.a., in korrelvorm.
- 3.4 Zwavelzuur p.a., $d = 1,84$.
- 3.5 Zwavelzuur 0,1 N.
- 3.6 Zwavelzuur 0,5 N.
- 3.7 Methylrood: 3 g/l in ethanol van 95—96 % (v/v).
- 3.8 Natronloog 400 g/l.
- 3.9 Natronloog 0,1 N.
- 3.10 Natronloog 0,25 N.
- 3.11 Verzadigde natriumsulfide-oplossing p.a.
- 3.12 Natriumthiosulfaatoplossing 80 g/l, $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ p.a.
- 3.13 Puimsteenkorrels, met zoutzuur gewassen en gegloeid.

4. Apparatuur

Destructie- en destillatieapparaat volgens Kjeldahl (zie opmerking 7.1).

5. Uitvoering

5.1 Destructie

Weeg af 1 g van het monster, tot op 1 mg nauwkeurig, en breng dit in de kolf van het destructieapparaat. Voeg hieraan toe 10 g kaliumsulfaat (3.1), de benodigde hoeveelheid katalysator (3.2) (0,3 à 0,4 g koper (II) oxide of 0,9 à 1,2 g kopersulfaat of een druppel kwik of 0,6 à 0,7 g kwik (II) oxide), 25 ml zwavelzuur (3.4) en enkele puimsteenkorrels (3.13). Meng de inhoud van de kolf. Verhit de kolf eerst zacht en zwenk van tijd tot tijd om tot de massa verkoold is en het schuim verdwenen; verhit vervolgens krachtiger tot de vloeistof regelmatig kookt. Zorg ervoor dat de wand niet oververhit raakt en dat geen organische stof aan de wand gaat vastzitten. Houd de vloeistof nog een uur aan de kook nadat deze helder en kleurloos is geworden (of lichtgroen bij aanwezigheid van een koperkatalysator). Laat vervolgens afkoelen.

5.2 Destillatie

Voeg onder omzwenken voorzichtig 250 tot 350 ml water toe, waarbij de sulfaten volledig dienen op te lossen. Laat afkoelen. Voeg vervolgens enkele zinkkorrels (3.3) toe.

Breng in de opvangkolf van het destillatieapparaat afhankelijk van het te verwachten stikstofgehalte precies 25 ml zwavelzuur 0,1 N (3.5) of 0,5 N (3.6) (zie opmerking 7.2), alsmede enkele druppels methylood (3.7).

Verbind de kolf met het destillatieapparaat en zorg ervoor dat het uiteinde van de koelbuis zich ten minste 1 cm onder het vloeistofoppervlak in de opvangkolf bevindt. Laat langzaam via de druppeltrechter (zie opmerking 7.3) in de kolf lopen 100 ml natronloog 40% (3.8).

Voeg bij gebruik van een kwikkatalysator bovendien toe in de kolf hetzij 10 ml natriumsulfide-oplossing (3.11), hetzij 25 ml natriumthiosulfaatoplossing (3.12).

Verhit de kolf zodanig dat in 30 minuten 150 ml vloeistof overdestilleert. Controleer na 30 minuten met behulp van lakmoespapier of het dan overkomende destillaat neutraal is. Destilleer bij een alkalische reactie verder tot het destillaat neutraal reageert op lakmoespapier. Zwenk tijdens de destillatie van tijd tot tijd de inhoud van de opvangkolf om en let op de kleur ervan. Voeg, in geval van een kleuromslag naar geel, onmiddellijk een nauwkeurig afgemeten hoeveelheid zwavelzuur 0,1 N (3.5) of 0,5 N (3.6) toe.

5.3 Titratie

Titreer de overmaatzwavelzuur in de opvangkolf met natronloog 0,1 N (3.9) of 0,25 N (3.10), afhankelijk van de normaliteit van het gebruikte zwavelzuur tot een kleuromslag naar lichtgeel.

5.4 Controle van de methode

Verricht een blancobepaling (destillatie en titratie) zonder analysemateriaal om na te gaan of de reagentia stikstofvrij zijn. Voer, om de nauwkeurigheid van de methode te toetsen, de analyse (destructie, destillatie en titratie) uit op 1,5 à 2,0 g aceetanilide p.a. (smp. 114 °C; % N: 10,36) in aanwezigheid van 1 g stikstofvrije saccharose. 1 g aceetanilide verbruikt 14,80 ml zwavelzuur 0,5 N.

6. Berekening van de resultaten

Bereken de hoeveelheid verbruikt zwavelzuur: 1 ml zwavelzuur 0,1 N komt overeen met 1,4 mg stikstof. Vermenigvuldig de hoeveelheid stikstof met de factor 6,25. Druk het resultaat uit in percenten van het monster.

Herhaalbaarheid

Het verschil tussen de resultaten van een bepaling in tweevoud in hetzelfde monster mag niet meer bedragen dan:

0,2% absoluut bij gehalten van minder dan 20% ruw eiwit;

1,0% relatief bij gehalten van 20 tot 40%;

0,4% absoluut bij gehalten van meer dan 40%.

7. Opmerkingen

- 7.1 Apparatuur waarbij het nodig is het destruaat over te brengen in een destillatiekolf mag eveneens gebruikt worden. Bij het overbrengen mogen geen verliezen optreden.
- 7.2 Voor stikstofarme veevoeders kan de in de opvangkolf te brengen hoeveelheid van 25 ml zwavelzuur 0,1 N eventueel worden teruggebracht tot 10 of 15 ml en met water worden aangevuld tot 25 ml.
- 7.3 Indien de destillatiekolf niet voorzien is van een druppeltrechter moet de natronloog worden toegevoegd onmiddellijk voordat de kolf met de koeler wordt verbonden; laat hierbij de vloeistof langzaam langs de wand van de kolf toevloeien ten einde menging met de zure oplossing zoveel mogelijk te voorkomen.



APPLICATION NOTE

Bijlage 2.

1981.05.10

AN 30/81

DETERMINATION OF KJELDAHL NITROGEN CONTENT WITH KJELTEC AUTO SYSTEMS I, II, III, and IV

I. INTRODUCTION

The Kjeldahl Nitrogen method, published nearly a century ago, is today the most frequently used procedure when measuring protein content in biological materials. It has also found its application as a method for determination of Nitrogen in many inorganic materials. The reasons for the wide acceptance and its official status are the high reliability in combination with the vast knowledge that has been developed during the long period of use. The Kjeldahl method is also highly appreciated for its general applicability on all types of materials. Originally the method was very tedious and time consuming to perform.

The KJELTEC AUTO SYSTEMS have been developed to meet today's requirements for efficiency, speed and convenience and to reduce the need for chemicals, energy and time, while still allow-



ing the performance of most of the modifications of the original method which are described in literature. This Application Note will in a broad sense describe how determinations can be performed using the different Tecator Digestion Systems in combination with the Kjeltec

Auto 1030 Analyzer. Methods for different products are presented in specific Application Sub Notes.

II. MATERIAL

Dry and well-mixed samples such as seeds, chopped straw, etc. should be ground to a particle size that allows a representative sample of about 0.2 - 1 gram to be taken. Semisolid samples such as meat and meat products, canned or frozen foods, should be homogenized and mixed carefully to allow a representative sample of typically 0.5 - 2 gram to be taken. Solutions, such as fresh milk, may be analysed without pretreatments. Homogenization may, however, be needed if e.g. the cream has separated from milk.

Note: The lower weights are recommended for semimicro Kjeldahl analyses using the Digestion Systems 12 and 40.

III. EQUIPMENT

Suitable equipment for sample preparation is needed. For grains etc. a Cyclotec Sample Mill (1900-0300) or a Cemotec Mill (1090-001) may be used whereas for semisolid samples a Moulinex or Ultra Turrax homogenizer may be used. For weighing of sample the 6002 Analytical Balance is recommended.

In addition the following equipment and accessories are needed for the different Kjelttec Auto Systems:

KJELTEC AUTO SYSTEMS				
	I (for macro Kjeldahl)		III (for semi-micro Kjeldahl)	
	Dig.Syst.6	Dig.Syst.20	Dig.Syst.40	Dig.Syst.12
1) Digester with built-in thermostat	1007-007 (220V/50Hz) 1007-008 (110V/60Hz)	1015-001 (220V/50Hz)	1016-001 (220V/50Hz)	1009-001 (220V/50Hz) 1009-002 (110V/60Hz)
2) Stand for tubes	1000-0831 (6 tubes)	1000-0082 (20 tubes)	1000-0072 (40 tubes)	1000-0537 (12 tubes)
3) Set of digestion tubes	1000-0155 (6 tubes)	1000-0158 (20 tubes)	1000-0735 (40 tubes)	1000-0825 (12 tubes)
4) Heat shield	1000-0536	1000-0188	1000-0188	1000-0536
5) Exhaust Manifold with water aspirator (incl. stand and drip pan)	1000-0835 (incl. in 1007-007)	1005-034	1006-025	1000-0836
6) Stand for rapid cooling of tubes		1000-0424	1000-0424	
7) Retainer plate		1000-0073	1000-0095	1000-0538
8) Scrubber Unit (optional)		1005-068	1005-068	

9) Kjelttec Auto 1030 Analyzer including storage tanks for alkali, receiver solution, separate feed water and titrant (1030-001, 220V/50Hz), (1030-002, 110V/60Hz).

10) Special checking thermometer (1000-0103).

6. Digest for 3 - 5 minutes with maximum air flow through the exhaust manifold. Then adjust the flow until fumes are just contained. (If gases tend to escape out into the air even at full air flow, the digester can be tilted slightly to help avoiding this. Just place a piece of wood about 12 mm underneath each front leg of the digester. This will prevent condensate from dropping from the collector straight down into the boiling sample mixture, which then may result in sudden and irregular changes in pressure.)
 7. Continue digestion until ready. Remove the stand with tubes and exhaust manifold and place the entire assembly in the cooling stand beside the digester. Increase the air flow through the exhaust manifold if necessary.
 8. As soon as the sample solutions have cooled sufficiently they should be diluted with water and mixed (25 ml water for semi-micro and 75 ml for macro tubes). Use heat resistant gloves for protection. (Tap water may be used for this purpose if proven N-free). Cooling can be speeded up by blowing air between the tubes with a small fan. If the digest is too hot when water is added, the reaction will be too violent and sample material might be lost. On the other hand if digest is too cold when water is added, salts may precipitate, which are difficult to redissolve. (Solidification should be avoided but in case precipitation does occur, dissolve it by placing the tubes in the digester for a short while.)
 9. Start up the Kjeltac Auto 1030 Analyzer as described in the manual. Make sure there is no air in the burette or the tubings from the burette.
 10. Select Kjeldahl programme and run one or two blanks with the constants set as follows:

A = 00.00, B = 1.000, Blank = .00

Note the display value and use it as blank value during the following distillations.
 11. Put the prepared* digestion tube in position and close the safety door. Set the B constant to correct value (see table in the manual). B is set to 1.000 if the result should be in ml.
 12. When the "cycle over" lamp is on, note the result and open the safety door (the result is printed if a printer is connected).

Result (in display) = A + B x (ml titrant - ml blank).
 13. Continue from 11 with the next sample.
- * If mercury is used as a catalyst and no thiosulphate has been added to the alkali, then 5 ml of the thiosulphate solution (as per 'Kjeltabs M/3.5' used in the digestion) must be added to the sample prior to the distillation.

VI. RESULTS AND COMMENTS

The KJELTEC AUTO SYSTEMS are specially designed to be flexible and thus to cope with most of the Kjeldahl methods used today. The methods presented in this Application Note as well as in the Application Sub Notes for different types of materials are only guidelines showing one or more ways to achieve reliable results. However, the recommendations are based on years of practical experience and collaborative studies together with many of our customers.

In the following we will discuss some of the factors that should be considered when determining nitrogen in organic materials by the Kjeldahl method.

1. Type of sample material

It is well-known that some types of material are far more easy to digest than others. Cereal seeds for example, are known to be simple to digest whereas fish meal and particularly tobacco leaves are far more difficult to digest. Nicotinamide is, because of its resistance to acid digestion, frequently used as a test sample to check the recovery of nitrogen.

2. Sample size

The larger the sample weight is that has to be heated and digested, the more chemicals will be needed, the longer time it will take to reach decomposition temperature of the digest and the longer time will be needed for complete digestion.

Thus it is not recommended to use larger samples than necessary to obtain a representative result.

3. Amount of acid used for digestion

The controlled conditions during digestion eliminates the potentially large loss of acid that may otherwise cause loss of nitrogen. The acid volume used in the KJELTEC AUTO SYSTEMS is therefore generally less than recommended in conventional procedures.

Thus when conventional procedures prescribe the use of 25 to 30 ml of acid it is normally sufficient to use 10 to 12 ml for macro analyses (250 ml tubes) and only about 5 ml for semi-micro analyses (100 ml tubes) when the Kjeltac Auto Systems are used.

4. Choice of catalyst

Extensive research published in literature as well as results from our own labs have shown that mercury is the number one catalyst as long as speed and "complete" recovery are given the highest priority. Its toxicity has stimulated many workers to use other catalysts instead. However, none of them is completely harmless.

In our earlier work we have been using Selenium as the normal catalyst. Kjeltabs with other catalysts are now available. In the Application Sub Notes for the different

materials we sometimes give alternative procedures if the same, or nearly the same, results can be achieved in reasonable time. (If you use Mercury as the catalyst, it can be recovered by collecting the distillation residue from the digestion tubes in a tank where the precipitate can be collected.)

5. Addition of salt to digestion mixture

The effect of salt as an accelerator of the digestion process by increasing the boiling temperature is well documented. Generally Potassium Sulphate is recommended and used because of the positive and long experience of it in Kjeldahl laboratories throughout the world. The acid:salt ratio should, however, be kept under control as too high salt concentrations may cause loss of nitrogen. As a thumb-rule, the salt concentration should not be so high that the digest solidifies when it is cooling down (even without addition of water!!!).

6. Use of oxidizing agents

Hydrogen Peroxide has been and still is used extensively as an oxidizing agent in many laboratories. From time to time, however, small losses of nitrogen may occur, particularly when it is used in combination with Selenium. As a matter of fact we have even found that it is very seldom necessary to use oxidizing agents as a means of reducing the foaming problems. The speed of digestion also seems to be more or less unaffected by oxidizing agents. Therefore we do not recommend the use of Hydrogen Peroxide as standard. However, if it is used, the losses of nitrogen should be carefully checked, especially if the Kjeltabs contain Selenium catalyst.

Hydrogen Peroxide should always be used with care. The violence of the reaction that

takes place when peroxide is added to the sample/acid mixture, depends on

- (a) the composition of the sample
- (b) the concentration of the peroxide used and
- (c) the care taken during the addition.

Particularly when a new batch of Hydrogen Peroxide is to be used or when a completely new type of sample is to be analyzed, special care is recommended.

7. Temperature at which digestion takes place

The digestion temperature is dependent on the boiling point of the digestion mixture, which again is dependent on the acid:salt ratio of the same mixture.

Another factor of significant importance is at what altitude the digestion takes place.

The higher the altitude is, the longer digestion time will be needed due to reduced boiling temperature of the digest. At e.g. 2,000 metres the boiling temperature is about 11°C lower than at the sea level.

The temperature of the digester is normally set to 420°C, which is well above the boiling point under the analytical conditions recommended. Still it is low enough to avoid the losses of Nitrogen that otherwise may take place if the digests are locally overheated.

8. Duration of Digestion

Depending on the choice of analytical conditions (1) to (7) above, the speed of digestion may vary from approximately 10 minutes up to several hours. If the methods given in the Application Notes for specified type of materials are followed, the digestion will normally be completed within 20 - 45 minutes.